

# Lagring av hornhinnevev

## Viktige momenter i hornhinnetransplantasjonens historie

Hedvig Eidahl

Veileder: Tor Paaske Utheim

## *Innholdsfortegnelse*

Abstract	3
Innledning	4
Metoder	4
Bakgrunn	5
1. Historie	5
2. Moderne hornhinnetransplantasjon	9
3. Lagringsmetoder	10
Diskusjon	12
1. Hvordan bevare hornhinnen?	12
2. Hvilken lagringsform er best egnet?	16
3. Lagring av dyrket vev ved behandling av stamcellemangel	22
4. Hornhinnetransplantasjon og blindhet i verden	25
5. Fremtiden og vevstilgang	26
Litteratur	27

## ***Abstract***

The first successful penetrating keratoplasty in a human was performed by Eduard Zirm in 1905. In 1935, V. P. Filatov was the first to report successful storage of whole eyeglobes at 4°C. The opportunity to store corneal tissue is crucial for extensive use of keratoplasty as treatment for corneal blindness.

Since the endothelium's importance for corneal function has been known for the last five decades, most research performed on corneal storage media has focused on the preservation of the donor endothelium. As an intact epithelium also is important for graft survival, further knowledge is needed regarding better preservation of the epithelium. The effect of corneal storage on keratocyte viability is still not certain.

At present, hypotherm storage, mainly Optisol-GS, and organ culture are the most frequently used storage techniques. They seem to result in similar graft survival, but differ in maximum storage time, technical aspects, tissue evaluation possibilities and microbiological safety. Organ culture seems to offer several advantages, yet the use of commercial fetal calf serum gives concern regarding the possible transfer of unknown microbiological agents.

Finally, recent advantages in preservation of cultured corneal/limbal epithelia may increase the availability of this tissue and therefore increase treatment of limbal stem cell deficiency. It remains to be shown whether further improvements in storage methodology also can bring other fields of regenerative medicine forward by improving the availability and safety of transplantation of cultured cells.

## ***Innledning***

I denne oppgaven ønsker jeg å fokusere på lagring av hornhinnevev og hvilke muligheter, begrensninger og problemstillinger lagring av dette vevet kan medføre. For å sette oppgaven i perspektiv skal jeg inkludere historien som har ledet frem til dagens kunnskap samt litt om lagringsmetoder som tidligere har vært anvendt. For å avgrense temaet skal jeg fokusere på de to lagringsmetodene som benyttes mest i dag, nemlig hypoterm lagring og organkultur, sammenligne disse og studere deres fordeler og ulemper.

## ***Metoder***

For å fremskaffe relevante litteratur gjorde jeg søk i pubmed med søkeordene ”cornea”, ”limbal stem cell deficiency”, ”storage” og ”eye bank storage”. Jeg valgte å ekskludere dyrestudier og artikler som ikke er skrevet på norsk eller engelsk for å begrense antallet artikler til et mer overkommelig nivå.

# ***BAKGRUNN***

## ***Historie***

Blindhet som følge av sykdom og arrdannelser i hornhinnen har vært et problem all den tid man har kjennskap til. En av de tidligste kjente former for behandling gikk ut på å gni ulike remedier, deriblant sot, på øyet for å fjerne arrdannelser. Den greske legen Galen (130-200 e. Kr.) mente at ved å bruke kobbersulfat kunne man slipe vekk defekter i hornhinnen og slik gjenopprette transparensen. Han kalte behandlingen abrasio corneae. Denne metoden holdt stand gjennom hele middelalderen og ble merkelig nok fremdeles praktisert på 1800-tallet.

Den første som foreslo kirurgisk behandling av korneal blindhet var Charles Darwin's bestefar, Erasmus Darwin (1731-1802). Han tenkte at en mulig løsning ville være å skjære ut en bit av hornhinnen og at såret kunne tilhele med transparent arrdannelse.

Guillaume Pellier de Quengsy (1750-1835), en anerkjent kataraktkirurg, publiserte i 1789 den første kjente beskrivelsen av en keratoprotese. Han foreslo å lage en kunstig hornhinne av glass omgitt av en sølvring, og at denne kunne festes til sklera med bomullstråd. Detaljerte beskrivelser av materialer, fremgangsmåte og teknikk til tross, ingen vet om de Quengsy noen gang forsøkte metoden.

Sent på 1700-tallet forsøkte flere fremstående oftalmologer å benytte sklerotomi til behandling av corneal blindhet. Tanken var å lage et "vindu" i sklera, dekke hullet med conjunctivalt vev og på denne måten slippe lys inn i øyet og dermed gi synet tilbake. Teknikken viste seg å være svært mislykket både hos mennesker og dyr, og ble raskt forkastet.

Franz Riesinger (1768-1855) var den første som foreslo å bruke hornhinner fra dyr til behandling ved korneal blindhet hos mennesker. Han fikk denne ideen etter å ha sett et forsøk på å transplantere hud. Han gjorde flere forsøk med kaniner der han fjernet vertshornhinnen med en kataraktkniv og sydde på plass en ny hornhinne. Riesinger døpte metoden keratoplastikk. Selv om ingen av hornhinnene forble klare, vakte Resingers forsøk stor

interesse hos mange kirurger, som fortsatte å forsøke å transplantere hornhinner fra dyr til mennesker.

Samuel Bigger, en irsk kirurg, utførte tidenes første vellykkede hornhinnetransplantasjon i 1837. Det hele kom til ved en tilfeldighet; på en reise i Afrika ble han tatt til fange av beduiner. Der utførte han en hornhinnetransplantasjon på en blind gasele som ble holdt som kjeledyr. Donorvevet ble hentet fra en annen gasele som var livstruende skadet. Dyret gav snart tegn på at det hadde fått tilbake synet, og den øvre delen av transplantatet forble klar og transparent. Denne hendelsen vakte på nytt håpet om at en vellykket hornhinnetransplantasjon var gjennomførbar.

I kjølvannet av Biggers vellykkede operasjon forsøkte Richard Sharp Kissam i 1838 å transplantere hornhinnen fra en gris over til en ung mann med arrdannelser på hornhinnen. For å unngå vanskelighetene en gjennomgående transplantasjon medførte, valgte han kun å erstatte de ytre lagene av mannens hornhinne. Dette er det første kjente forsøket på å utføre en lamellær transplantasjon. Pasientens syn bedret seg øyeblikkelig, men hornhinnen mistet raskt sin transparens og etter en måned var transplantatet fullstendig absorbert.

I 1847 kunne Sir William Bowman publisere den første detaljerte mikroskopiske beskrivelsen av hornhinnens struktur og oppbygning. Dette førte til at kunnskapen om hornhinnen og dens anatomi økte betraktelig. Også utvikling av kirurgisk utstyr og teknikk førte til fremskritt. Arthur von Hippel utviklet den første sirkulære trepanen, tidligere kirurger hadde kun hatt saks og kataraktkniv å benytte seg av. Dette instrumentet ga store tekniske fordeler og brukes den dag i dag i en mer moderne utgave.

Henry Power (1829-1911) var den første oftalmologen som mente at humane hornhinner egnet seg best til transplantasjon. Denne preferansen skyldtes ingen forståelse for vevforskjeller mellom artene, men heller at tykkelsen på transplantatet ville passe bedre inn hos verten. Von Hippel derimot forsvarte standhaftig bruken av dyrevev, og forsinket dermed videre fremskritt i flere tiår. Ernst Fuchs utførte systematiske studier med både dyrevev og humant vev, og kunne dermed dokumentere fordelene ved bruk av humant vev.

Endelig ble den første vellykkede hornhinnetransplantasjon utført av østerrikeren Edvard Zirm i 1905. Donorvevet stammet fra en 11 år gammel gutt hvis ene øye måtte fjernes på

grunn av en perforasjonsskade på sklera. Mottaker var en 46 år gammel mann med arrdannelser på begge hornhinner som følger av etseskade. Donorøyet ble fjernet umiddelbart før transplantasjon, og to 5 mm store vevsbiter ble skåret ut fra hornhinnen ved hjelp av en von Hippel trepan. Disse ble satt inn i hvert øye hos mottakeren. Det ene transplantatet ble snart uklart, men det andre holdt seg klart. Etter dette fortsatte Zirm å utføre transplantasjoner, men langt fra alle var vellykkede og han publiserte ingen flere arbeider.

De neste 30 årene etter Zirms store gjennombrudd fortsatte man å bruke hornhinner fra levende donorer, da man ikke kjente til noen metode for å lagre hornhinnene. Russiske V. P. Filatov var den første som benyttet hornhinner fra nylig avdøde mennesker. Han utførte tallrike transplantasjoner av humane hornhinner og gjorde systematiske studier av disse. I 1935 lagret han 35 øyeepler fra avdøde i forseglede krukker ved 4°C i 20 til 56 timer før transplantasjon, en metode som ligner fuktkammerteknikken som fremdeles er i bruk for lagring opp til 48 timer. Etter hans oppfatning var kvaliteten på disse hornhinnene like god som på dem som stammet fra levende donorer.

Etter hvert som bedøvelse og hygiene ble bedre, økte fokuset på utvikling av nye instrumenter, operative teknikker og suturmetoder. Dette førte til at suksessraten gradvis økte. Et hovedproblem i hornhinnekirurgien hele første halvdel av 1900-tallet var mangel på egnet suturemateriale og tilstrekkelig fine nåler. I slutten av 1950-årene fikk man tilgang til finere silkesuturer, etter hvert også til tynne nylonsuturer og små, fine nåler. Tilgang på antibiotika på 1940-tallet førte til store fremskritt innen all medisin og kirurgi. Medikamentell behandling av infeksjoner gjorde at behovet for kirurgisk behandling av akutte infeksjoner og arrdannelser sank, og profylaktisk bruk av antibiotika og antivirale midler reduserte forekomsten av tidlige postoperative infeksjoner. Økende kunnskap om immunologi og transplantatforkastelse i 1950-årene ledet til utvikling av immunosuppressive medikamenter som kortikosteroider og cyclosporin A. Dette førte til en fornyet interesse for hornhinnevevets antigene egenskaper, og behandling med kortikosteroider ga en markant bedring av postoperativ prognose.

Det største problemet nå var den lave tilgangen på donorvev. Med visjoner om å skape en regelmessig tilførsel av donormateriale, grunnla Richard Townley Paton i 1944 verdens første hornhinnebank i New York. Hans første tiltak var å få tillatelse til å bruke øyne fra henrettede fanger. Han var også pådriver for å få vedtatt lover som ga folk anledning til å donere sine

hornhinner til transplantasjon etter sin død. Til lagring av hornhinnene han skaffet benyttet Paton fuktkammerteknikken, som er den samme metoden som Filatov benyttet.

Dagens hornhinnebanker følger internasjonale retningslinjer for innhenting, oppbevaring og kvalitetssikring av donormateriale. Dette er nedfelt i retningslinjene til den europeiske og den amerikanske biobankorganisasjonen for øyesykdommer.

I 1953 kartla Frederick W. Stocker endotelets struktur og funksjon, og demonstrerte samtidig hvor viktig et intakt endotel var for å opprettholde hornhinnens klarhet [1]. Dette førte til økt fokus på bevaring av endotelets morfologi og funksjon i den videre forskning for å finne mer gunstige lagringsmetoder for hornhinnevevet. Man begynte også å benytte viskoelastiske substanser for å beskytte transplantatets endotel under operasjonen.

Endrede indikasjoner for hornhinnetransplantasjon har også bidratt til en økt suksessrate. Første halvdel av 1900-tallet ble transplantasjoner hovedsakelig utført på grunn av infeksjoner, traumer og kjemisk skade, ofte i akuttfasen. Dette er tilstander som generelt gir dårlig prognose for transplantatoverlevelse. Fordi den medikamentelle behandlingen av disse tilstandene har bedret seg radikalt, har færre av disse pasientene behov for transplantasjon i akuttfasen. I dag er det kroniske, non-inflammatoriske tilstander som utgjør de hyppigste indikasjonene, som keratokonus, endoepitelial dystrofi og macula cornea [2].



## ***Moderne hornhinnetransplantasjon***

Gjennomgående transplantasjon er den hyppigst anvendte operasjonsmetode. Her fjernes sentrale del av vertskornea i hele sin tykkelse og erstattes av et transplantat i full tykkelse. Man lar en rand av vertskornea stå igjen for å unngå at transplantatet kommer nær blodårene i limbusområdet, for slik å redusere risikoen for immunologiske reaksjoner. Nær limbusområdet ligger dessuten strukturer som drenerer kammervæsken, og skade på disse strukturer kan føre til postoperativt glaukom. Den hyppigste indikasjonen for gjennomgående hornhinnetransplantasjon er keratokonus. Deretter følger skade på endotelet med påfølgende endoepitelial dystrofi etter implantasjon av intraokulær linse ved katarakt. Macula cornea er tredje hyppigste indikasjon.

Man har også former for hornhinnetransplantasjon der bakre del av vertskornea beholdes og kun fremre del erstattes av transplantat. Dette kalles lamellær transplantasjon. Her fjernes epitelet og fremre deler av stroma og erstattes av tilsvarende transplantat mens endotel og dypere deler av stroma blir værende. Dette inngrepet er aktuelt ved synshindrende uklarheter i hornhinnen som ligger for dypt til å kunne fjernes med eximerlaser, samt ved ikke-perforerende substanslap i hornhinnen. Ved epikeratofaki fjerner man kun epitelet på vertskornea og et lamellært transplantat legges direkte på Bowmans membran.

Fordelen med lamellære inngrep er at vertens endotel beholdes, og dermed kommer ikke transplantatet i direkte kontakt med kammervesken. Dette reduserer risikoen for immunologiske reaksjoner. Inngrepet er ekstraokulært, og medfører dermed ingen risiko for kammervannslekkasje, opphevet forkammer og intraokulær betennelse.

Ulempen ved lamellære inngrep er at det kan tilkomme en viss uklarhet i overgangen mellom transplantat og verthornhinnen, det er derfor mulig at synet ikke blir like klart som ved en vellykket gjennomgående transplantasjon [3].

## ***Lagringsmetoder***

Ved den første vellykkede hornhinnetransplantasjonen i 1905 benyttet Zirm vev fra en 11 år gammel gutt som måtte fjerne sitt øye på grunn av en perforasjonsskade av sklera. De neste 30 årene benyttet man kun hornhinner fra levende donorer.

Den første som hadde tanker om at hornhinnevev kunne lagres var russiske V. P. Filatov. Han var også den første som benyttet vev fra avdøde donorer. Han hentet ut hele globus innen få timer etter dødsfallet, vasket disse og lagret dem i tette krukker ved 4°C i 20-56 timer før transplantasjon. Filatov mente at disse fungerte like godt og ga samme resultat som bruk av hornhinner fra levende donorer. Denne oppdagelsen skulle vise seg å være en av de viktigste oppdagelsene i hornhinnetransplantasjonens historie; da nettopp lagring er en forutsetning for god tilgjengelighet på vev, og dermed utbredt bruk av transplantasjon som behandling. Men tilgangen på vev var svært begrenset, og den viktigste kilden til hornhinner i 1940-årene fortsatte å være fra levende mennesker som av ulike grunner måtte fjerne hele øyeeplet.

Metoden Filatov benyttet er hovedsakelig den samme som fuktkammerteknikken som var i bruk frem til 1970-årene for lagring opptil 48 timer [4] [5]. Dette er den enkleste og minst kostbare av alle lagringsmetodene. Dette er en fordel i mange situasjoner, særlig i utviklingsland [6]. Denne lagringsmetoden forutsetter at globus fjernes så raskt som mulig etter dødens inntreden, og fører til at transplantasjonen må utføres som en akutt prosedyre uten mulighet for særlig planlegging. Den største ulempen med fuktkammerlagring er at hele øyet lagres i intakt form. Dette fører til at endotelet eksponeres for de postmortale forandringene i kammervæsken under hele lagringen. Dette er potensielt svært skadelig for cellene og begrenser lagringstiden [7].

En stund ble kryopreservasjon viet mye oppmerksomhet, da man så dette som en mulighet for lagring i ubegrenset tid. Kaufman og Capella utviklet basismetoden som fremdeles er i bruk ved noen få øyebanker i dag [8]. Den består i at hornhinnen med en brem av sklera fjernes fra det øvrige øyeeplet og tilsettes en rekke løsninger med økende innhold av dimetyl sulfoxid. Vevet fryses gradvis ned til -80° og lagres deretter ved -160° i udefinert tid.

I dag er kryopreservasjon lite brukt, da metoden både er teknisk kompleks og gir større grad av endotelskade enn andre lagringsmetoder [4].

Det neste store steget innen hornhinnelagring fant sted i 1974, da de to amerikanerne Bernhard E. McCarey og Herbert E. Kaufman introduserte en ny form for lagring [9]. Her ble hornhinnen med en brem av sklera fjernet fra donorøyet og oppbevart i et lagringsmedium ved 4°, derav begrepet hypoterm lagring. Den lave temperaturen senket vevets metabolisme og reduserte oppvekst av mikrober, men gjorde også at vevets levedyktighet ikke kunne opprettholdes i mer enn 3-4 dager [10]. Denne lagringstiden var likevel revolusjonerende, og gjorde det mulig å planlegge inngrepene på forhånd. Nå kunne både kirurg og pasient forberede seg bedre, og dette var heldig for både kostnad og effektivitet.

Siden utviklingen av McCarey-Kaufman-mediet har mange lignende lagringsmedier sett dagens lys. K-Sol, CSM og Dexsol er noen av lagringsmediene som er utviklet med utgangspunkt i M-K-medium ved å tilsette chondroitinsulfat [4]. Tilsetning av chondroitin sulfat har vært viktig for å kunne forlenge lagringstiden ved hypoterm lagring. Nøyaktig hva slags egenskaper chondroitinsulfat har er foreløpig ukjent, men en teori er at den fungerer som en antioksidant og dermed har en beskyttende virkning på donorvevet [6]. Optisol, en hybrid av K-Sol og Dexsol, ble introdusert i 1990-årene. Optisol kan bevare endotelcellene i opp til to uker, og gir tynnere vev sammenlignet med Dexsol, K-Sol og M-K-medium. Dette tillater mer nøyaktig vevsevaluering og lettere håndtering, samt tidligere rehabilitering av synet [11]. Tilsetning av gentamicin og streptomycin til Optisol resulterte i Optisol-GS [12], som er ett av dagens mest benyttede lagringsmedier.

Stocker og medarbeidere forsøkte å bevare hornhinner ved kroppstemperatur ved å lagre dem i serum [13]. I 1976 undersøkte Doughman, Lindstrøm og medarbeidere mulighetene for lagring av hornhinner ved 30-37° [14], og også i Europa ble denne metoden undersøkt og videreutviklet [15]. Oppbevaring ved kroppstemperatur krever at hornhinnen oppbevares i et medium som inneholder alle de nødvendige næringsstoffene. Dette oppnås ved å tilsette føtalt kalveserum [10]. I tillegg tilsettes antibiotika og antimycotika. Denne lagringsformen fikk navnet organkultur, og brukes i dag av de fleste øyebanker i Europa [16] på grunn av muligheten for lagring i opp til 48 dager [17].

## ***DISKUSJON***

### ***Hvordan bevare hornhinnen?***

#### ***Endotelet***

Endotelet er hornhinnens innerste lag og den delen som ligger i kontakt med kammervæsken. Det har som funksjon å regulere hornhinnens væskeinnhold og opptak av næringsstoffer. Hornhinnens væskeinnhold må holdes tilnærmet konstant på rundt 78% for at den skal holde seg klar og transparent. Dette skjer dels ved fordampning fra overflaten, dels ved utveksling av ioner i endotelet. Disse skaper osmotiske gradienter som trekker væske ut av cornea. Endotelet har dessuten en barrierefunksjon som hindrer passiv diffusjon fra kammervæsken inn i cornea [3].

Endotelet består av ett enkelt lag av heksagonale celler som praktisk talt ikke fornyes gjennom livet. Man er født med langt flere celler enn man trenger, men antallet reduseres med årene som del av den normale aldringsprosessen. Intraokulære inngrep, langvarig intraokulær inflammasjon og kraftig trykkforhøyelse vil særlig kunne redusere celletettheten. Hvis tettheten av endotelceller faller under en viss grense oppstår hornhinneødem med påfølgende redusert syn, eventuelt også dannelse av smertefulle, epiteliale blemmer. Ved gjennomgående hornhinnetransplantasjon er det derfor av avgjørende betydning for resultatet at transplantatet har et velfungerende endotel, og at dette ikke skades under inngrepet [3].

Siden endotelets kvalitet er essensielt for transplantatets klarhet og overlevelse [1], er dette den viktigste faktoren som bestemmer hvor lenge hornhinnevevet kan lagres, og en stor del av forskningen rundt lagringsmedier fokuserer på bevaring av endotelet. Optisol tillater lagring i opp til to uker [11]. Frueh og Bohnke har kommet frem til at ved lagring i organkultur kan

hornhinnene brukes etter opp til 48 dagers lagring [17], og dette bekreftes også i senere studier [18]. Det hersker allikevel liten tvil om at kortere lagringstid gir høyere endotelcelletall både umiddelbart etter lagring og 12 mnd etter transplantasjon [19]. Ved postoperativ sammenligning av hornhinner lagret i hhv Optisol GS ved 4 °C og organkultur ved 36 °C fant man ingen signifikant forskjell i endotelcelletetthet og hornhinnetykkelse løpet av de første to årene etter operasjonen. I dette tilfellet var alle hornhinner lagret i maksimalt 11 dager [20]. En sammenligning av endotelcelletall og postoperative resultater hos hornhinner lagret maksimalt av anbefalt tid er ennå ikke utført [5]. Harper og medarbeidere fulgte 24 pasienter etter gjennomgående hornhinnetransplantasjon, og fant at tapet av endotelceller aksellererte etter transplantasjon. Dette indikerer at man fremdeles har et stort behov for å forbedre endotelcellenes livsgrunnlag både under og etter lagring for å øke transplantatets langtidsoverlevelse [21].

Bestemmelse av endotelcellenes tetthet, utseende og fordeling er nødvendig forut for lagringen for å vurdere donorvevets kvalitet. Undersøkelse av endotelet foregår ved inspeksjon, eventuelt farging og fotografering i mikroskop. Tettheten av levende celler kan ikke være under 2500/mm<sup>2</sup>. Døde celler må være spredt jevnt, eventuelle opphopninger kan gjøre vevet ubrukelig [10].

### ***Epitelet***

Intakt epitel er helt nødvendig for transplantatets overlevelse etter en gjennomgående hornhinnetransplantasjon. Selv om epitelet i transplantatet etter hvert erstattes av vertens eget epitel, kan dette ta tid og det er derfor viktig at donorepitelet er av god kvalitet [22]. Dette gjelder særlig i øyne med okulær overflatesykdom som Steven-Johnsons syndrom, okulær cikatrisiell pemphigoid og ved alvorlig tørre øyne. Dersom kvaliteten av donorepitelet er dårlig og reepitelialiseringen er mangelfull, vil det oppstå persisterende epiteldefekter. Dermed foreligger risiko for infeksjon, arrdannelse, uttynning av hornhinnestroma og perforasjon, hvorav alle disse kan føre til ødeleggelse av transplantatet [22]. Dessverre har det foreløpig vært lite fokus på epitelcellene og hvordan deres kvalitet skal bevares i arbeidet med utvikling av nye lagringsmedier [5].

Det er vist at tidsintervallet mellom lagring og kirurgi påvirker graden av epiteldefekter, og at sannsynligheten for epiteldefekter postoperativt øker med lengre lagringstid [23]. Lagringens varighet har også avgjørende betydning for hvor godt donorepitelet bevares, og ved sammenligning av Optisol GS og Dexol fant man ingen forskjell i epitelstatus. Her fant man at kun basallaget var intakt etter 4 dagers lagring [22]. Ved studium av hornhinner lagret i Optisol GS fant man også at lengre lagringstid ga en økt risiko for persisterende postoperative epiteldefekter [24].

Van Meter og medarbeidere fant at postmortem tid (tiden mellom dødsfall og inkubasjon av hornhinnen) på over 6 timer økte risikoen for skade på donorepitelet [25]. Dette indikerer at man bør ta hensyn til postmortem tid når man velger ut donorvev, særlig ved behandling av okulær overflatesykdom. Også Slettedal og medarbeidere har undersøkt sammenhengen mellom postmortem tid og hornhinneepitelets overlevelse, samt hvordan postmortem tid påvirker epitelets evne til regenerasjon ved lagring i organkultur. Her fant man at antallet epitelceller sank med økende postmortem tid. Ved inkubasjon av hornhinner med postmortem tid fra 1-7 døgn fant man at 10 av 12 hornhinner var dekket av epitel etter 3 dager i organkultur. Dette viste at hornhinneepitelet inneholdt levedyktige celler opp til 7 dager post mortem, og at disse var i stand til å gjenopprette et intakt epitel i løpet av få dager ved lagring i organkultur [26].

En fransk gruppe har studert reepitelialisering etter gjennomgående hornhinnetransplantasjon ved bruk av donorvev lagret i organkultur. Her fant man at ved bruk av Natrium hyaluronat etter kirurgi for å dekke vevsoverflaten skjedde reepitelialiseringen raskere. Reepitelialiseringen var signifikant langsommere hos høyrisiko mottakere og ved bruk av dexametason øyedråper [27].

### ***Stroma***

Hornhinnens stroma utgjør 90% av hornhinnens tykkelse. Den består hovedsakelig av regelmessig orienterte kollagenfibriller omgitt av proteoglykan grunnsubstans. Cellene i dette vevet kalles keratocytter og er en type fibroblaster. Man har begrenset kunnskap om hvorvidt lagring påvirker kvaliteten på stroma [28]. Vanligvis synker hornhinnens tykkelse midlertidig til subnormale verdier ca 6 mnd etter transplantasjonen [29, 30]. Deretter øker transplantatets

tykkelse gradvis inntil den igjen når sin normale verdi. Denne midlertidige reduksjonen i tykkelse kan skyldes redusert keratocytffunksjon som følger av lagring i organkultur, eller tap av ekstracellulær matriks i løpet av inkubasjonen [31, 32]. Hvor raskt pasienten gjenvinner synet etter en gjennomgående hornhinnetransplantasjon kan være relatert til keratocyttenes tetthet og funksjonsevne postoperativt. Møller-Pedersen og medarbeidere fant ingen signifikant endring av antallet keratocytter i løpet av 28 dager i organkultur. Allikevel kan keratocyttenes funksjon ha endret seg betraktelig i løpet av inkubasjonen, noe som ikke ble undersøkt eller diskutert i denne studien [33]. Det er foreløpig ukjent hvorvidt en vellykket gjennomgående hornhinnetransplantasjon forutsetter at keratocyttenes tetthet eller funksjonsevne er over et visst nivå [28].

### ***Hvilken lagringsform er best egnet?***

Det meste av vevet som benyttes ved gjennomgående transplantasjon kommer fra hornhinnebanker der hornhinnen med skleral brem lagres enten ved hypoterm lagring eller i organkultur. Begge lagringsteknikker ser ut til å gi samme transplantatoverlevelse. Frueh og medarbeidere undersøkte 12 par hornhinner lagret i 11 dager i Optisol eller organkulturmedium. Her fant man ingen signifikant forskjell i endotelcelletetthet og hornhinnetykkelse de første to årene postoperativt [20]. En nederlandsk gruppe har nylig avsluttet en 14-årig postoperativ oppfølging av 14 par hornhinner. Halvparten av hornhinnene ble lagret i M-K-medium i gjennomsnittlig 21 timer, den andre halvparten ble lagret i organkultur i gjennomsnittlig 192 timer. Undersøkelse etter ett år postoperativt viste ingen signifikant forskjell mellom de to gruppene i synskvalitet, sentral hornhinnetykkelse og sentral endotelcelletetthet. Etter 14 år postoperativt kunne 9 par pasienter spores opp og undersøkes. Da fant man heller ingen signifikant forskjell i synskvalitet og endotelcelletetthet, men hornhinnene lagret i organkultur hadde en signifikant redusert tykkelse i forhold til hornhinnene lagret i M-K-medium. Den viktigste begrensningen i denne studien er det lave antallet hornhinner som ble undersøkt [34].

I dag er valg av lagringsmetode hovedsakelig bestemt ut fra tilgangen på hornhinner. I USA, der tilgangen på vev er relativt stor i forhold til behovet, er Optisol GS den hyppigst benyttede. I Europa, der vevstilgjengeligheten er noe lavere i forhold til behovet, er organkultur mest brukt på grunn av muligheten for lagring opp til 48 dager [17]. Dette øker mengden donorvev på lager, samt gir bedre tid til undersøkelser og testing.

I tillegg finnes en rekke forskjeller mellom de to lagringsformene som kan resultere i at den enkelte øyebank foretrekker den ene metoden fremfor den andre.



## ***Tidsbegrensninger***

Maksimal lagringstid bestemmes av lagringsmetodens evne til å bevare endotelets funksjon og integritet [1]. Tapet av endotelceller under lagring kan variere fra hornhinne til hornhinne. Dette er antagelig et resultat av ulik vitalitet som følge av en rekke faktorer, blant annet postmortem tid (tid mellom dødsfall og inkubasjon av hornhinnen), dødsårsak, donorens alder, omstendigheter rundt dødsfallet etc. Degenerative prosesser kan finne sted i løpet av lagringen, man må derfor ta høyde for et endotelcelletap av varierende størrelse. For å redusere risikoen for primær transplantatsvikt, er anbefalt lagringstid satt til langt under antatt maksimal lagringstid [16].

Ved hypoterm lagring bør postmortem tid holdes så kort som mulig og under 12 timer. Dette for å forhindre negativ påvirkning av hornhinnens vitalitet som og muligens økt tap av endotelceller. Ved lagring i organkultur kan postmortem tid utvides til 24-48 timer, fordi reparasjon av endoteldefekter kan finne sted i løpet av lagringen [35]. Camposampiero og medarbeidere har vist at hos hornhinner lagret ved 4 °C vil påfølgende oppbevaring i organkultur redusere graden av endotelskade betraktelig [36]. Dette kan benyttes av hornhinnebanker for å redusere antallet hornhinner som ikke kan brukes til transplantasjon.

Tidligere har man tenkt at defekter i endotellaget dekkes ved at nabocellene øker sitt areal [3]. En nylig studie indikerer at reparasjon av endotelet under lagring i organkultur også foregår ved proliferasjon av endotelcellene [37].

## ***Vevsevaluering***

Hvilken lagringsmetode som benyttes avgjør hvilke muligheter man har til å evaluere endotelet. Ved hypoterm lagring evalueres endotelet kun en gang, og dette skjer før lagring. Ved lagring i organkultur har man anledning til å evaluere endotelcellenes tetthet og distribusjon både før og etter lagring [38]. Dette gir en mulighet til å ekskludere de hornhinnene som ikke har tålt lagringen, og slik redusere antallet mislykkede transplantasjoner. I tillegg vil dette øke antallet mulige donorer da man ikke trenger å ta

hensyn til donoralder, postmortem tid og andre faktorer som påvirker endotelcellene [39]. Muligheten for å evaluere endotelet etter lagring er en av fordelene ved lagring i organkultur fremfor hypoterm lagring.

Ved lagring i organkultur finner man et varierende endotelcelletap som man tenker skyldes ulik kvalitet og hardførhet mellom de enkelte hornhinner. Slik fungerer lagringen som en slags stresstest [39]. Man kjenner flere faktorer som kan øke endotelcelletapet under lagring. Dødsårsak, donoralder og øvrige sykdommer hos donor slik som diabetes er blant faktorene som mistenkes [38]. Alvorlig og fullstendig endotelcelletap antas å skyldes herpes simplex infeksjon i donorvevet [40, 41]. For å demonstrere betydningen av endotelcelleevaluering etter lagring studerte Builles og medarbeidere endotelcelletapet hos 1992 hornhinner over 4 år. Her fant man at evaluering av endotelet etter lagring forhindret 29 tilfeller av primær transplantatsvikt [38].

### ***Praktiske aspekter***

Fordelene med hypoterm lagring er at metoden er enkel rent teknisk og ikke krever dyrt utstyr. Organkultur derimot, er en komplisert lagringsform som krever mer personell, ekspertise og utstyr [16].

Ved hypoterm lagring er lagringsmediet tilsatt dehydrerende stoffer (chondroitinsulfat, dextran) som motvirker at hornhinnen svulmer opp. Dette gjør at vevet hele tiden er tilgjengelig for inspeksjon og kirurgi. Ved lagring i organkultur benyttes ikke dehydrerende stoffer, da disse tas opp av hornhinnecellene ved fysiologisk temperatur og vil virke skadelig på hornhinnevevet [42] [43]. Hornhinnen svulmer derfor opp til cirka det dobbelte av sin opprinnelige tykkelse under lagringen [16]. Dette må reverseres før transplantasjon, noe som gjøres ved at lagringsmediet oppbevares i et såkalt transportmedium, dvs. et annet lagringsmedium tilsatt dextran, i en kortere tidsperiode slik at risiko for opptak av dextran er lavere [6]. Denne nødvendige ”omveien” via dehydreringsfasen hindrer hornhinnen fra å være direkte tilgjengelig for bruk.

I tillegg til at dextran i seg selv er skadelig for hornhinnens celler, fører prosessen med overhydrering under lagring og dehydrering før transplantasjon til økt endotelcelletap. Et

supplement til organkulturmediet som hindrer hornhinnen i å svulme opp under lagring ved kroppstemperatur uten skadelig effekt på vevet ville derfor vært et kjærkomment fremskritt [5].

### *Smittefare*

Infeksjon er en fryktet komplikasjon etter hornhinnetransplantasjon. Alt donorvev er kontaminert, dette skjer umiddelbart etter at blinking og tåreproduksjon opphører [44]. For å redusere risikoen for postoperative infeksjoner er lagringsmediet tilsatt antibiotika både ved organkultur og hypoterm lagring. Organkultur er i tillegg tilsatt antimycotika [16].

Effekten av antibiotika er avhengig av hvorvidt de kontaminerende mikrobene er metabolsk aktive. Under hypoterm lagring vil derfor virkningen være liten. Preoperativ oppvarming og oppbevaring av lagringsmediet i romtemperatur er derfor nødvendig for å øke den dekontaminerende effekten [45]. Effekten av antibiotiske og antimykotiske stoffer vil derimot ha en mye større effekt ved organkultur som lagres ved 31-37 °C. Teoretisk sett vil risiko for kontaminering derfor være lavere ved organkultur

Ved organkultur tas rutinemessig prøver av mediet til analyse med hensyn på oppvekst av bakterier og sopp underveis under lagringen. Dette lar seg ikke gjøre ved hypoterm lagring, her kan prøve kun tas fra den sklerale randen etter transplantasjon. I tilfeller der det er økt risiko for at donorvevet er kontaminert, kan derfor lagring i organkultur være å foretrekke [39].

Melding av ugunstige hendelser ved hornhinnetransplantasjon er påbudt og registreres sentralt innad i EU-området, der både hypoterm lagring og organkultur benyttes. Dette vil med tiden vise om det foreligger noen ulikheter i forekomsten av endoftalmitt [16].

Ved lagring i organkultur finnes også en annen potensiell smittekilde. Dagens lagringsmedier for bruk ved 31 °C er tilsatt en varierende mengde føtalt kalveserum. Dette medfører en potensiell risiko for overføring av smitte. Særlig er man bekymret for overføring av prioner med tanke på Creutzfeld-Jacobs sykdom [46] [39] [47]. En annen ulempe med serum er at serumets ingredienser og sammensetning er uoversiktlig og varierende. Slik variasjon kan ha

konsekvenser for postoperative forhold og transplantatoverlevelse [47]. En rekke dyrkningsmedier er under utprøving med tanke på å finne et serumfritt lagringsmedium til bruk ved 31 °C. Ved sammenligning av åtte slike lagringsmedier fant Møller-Pedersen og medarbeidere at SFM (serum free medium) ga best bevaring av endotelcellene. Det er derfor ønskelig at dette lagringsmediet undersøkes videre og eventuelt videreutvikles [47]. Dersom flere studier viser det samme, vil dette mediet i fremtiden kunne være et tryggere alternativ enn dagens organkulturmedium.

Et annet serumfritt lagringsmedium som har vekket interesse er Eurosol. Stoiber og medarbeidere har sammenliknet Eurosol og vanlig organkulturmedium tilsatt 2% føtalt kalveserum. Ved lagring opp til 35 dager fant man ingen signifikant forskjell i endotelcelletall eller hornhinnetykkelse. I denne studien er kun et lite antall hornhinner inkludert, og ingen av disse ble benyttet til transplantasjon. Det er derfor behov for flere undersøkelser før man med sikkerhet kan fastslå at Eurosol er en god erstatning for konvensjonelle serumholdige lagringsmedier [46].

### ***Betydningen av forlikelighet***

Immunologiske reaksjoner er den viktigste årsaken til transplantatsvikt. Denne risikoen kan reduseres dersom det foreligger ABO- forlikelighet [48]. Grunnet tvetydige og motsigende resultater fra ulike studier er det foreløpig usikkert hvorvidt HLA- forlikelighet mellom donor og mottaker reduserer risiko for immunologiske reaksjoner [49] [48]. Dersom HLA- forlikelighet vil vise seg å være heldig, kan behovet for HLA-matching av donor og mottaker bli en viktig grunn til å velge organkultur som lagringsmetode. Organkultur gir tilstrekkelig tid til typing og forlikelighetstester [16].

### ***Lagringstidens betydning for immunologiske forhold***

Det er vist at ved lengre lagringstid vil vevet kvitte seg med en større del av medfølgende leukocytter fordi disse migrerer over i lagringsmediet. Ardjomand og medarbeidere har undersøkt hvilken effekt lagring i hhv organkulturmedium, Optisol og McCarey-Kaufman medium har på antallet HLA-DR positive Langerhanske celler i donorvevet. Her fant man at

tapet av HLA-DR antigener hovedsakelig er relatert til lagringstiden, og er uavhengig av typen lagringsmedium og temperatur ved lagring. Etter lagring i rundt 14 dager fant man ingen gjenværende HLA-DR positive langerhanske celler uansett lagringsmedium benyttet [50]. Dette kan ha en positiv effekt på transplantatoverlevelse ved bruk av allograft særlig i tilfeller med økt risiko for immunologiske komplikasjoner. Simon og medarbeidere har undersøkt hvorvidt lagringstiden faktisk påvirker transplantatoverlevelse hos pasienter med hhv høy og lav risiko for immunologisk betinget transplantatforkastelse. Klassifisering i høy- og lavrisikogrupper ble foretatt på bakgrunn av hvorvidt det forelå karinnvekst i vertskornea og tidligere hornhinnetransplantasjoner. Her fant man at høy- risiko pasienter hadde en signifikant lengre transplantatoverlevelse dersom donorvevet var lagret i 7 dager eller lengre, sammenliknet med mottakere av ferskt vev. Hos lav- risiko pasienter fant man ingen statistisk signifikant forskjell i transplantatoverlevelse [51].

### ***Oppsummering***

Som en oppsummering kan man si at selv om organkultur er en mer kostbar og krevende lagringsmåte, har den flere fordeler og muligheter enn hypoterm lagring. Man har bedre tid til å foreta vevstyping og forlikelighetstesting, og man har mulighet for å oppdage gjenværende mikroorganismer før transplantasjon. Vevsdefekter kan tilhele i løpet av lagringen, og dette øker antallet potensielle donorer. Mikroskopisk evaluering av endotelets kvalitet etter lagring øker også antallet potensielle donorer da man ikke lenger ekskluderer vev ut fra postmortem tid og donoralder.

### ***Lagring av dyrket vev ved behandling av stamcellemangel***

Som alle andre epiteloverflater har også hornhinnen et konstant celletap. Cellene som normalt avstøtes samt epiteldefekter som følge av skade erstattes ved at hornhinneepitelets stamceller deler seg [52]. De norske legene Davanger og Evensen var de første som fikk ideen om at disse kunne befinne seg basalt langs limbus [53]. Skade på limbusområdet kan ødelegge disse stamcellene og slik forårsake kroniske epiteldefekter, og hornhinnen vil miste sin transparens og struktur med kraftig synssvekkelse som følge. Ved total mangel på stamceller vil conjunctivale epitelceller og kar perifert for limbus vokse inn på overflaten av hornhinnen, noe som forårsaker ubehag og sterkt redusert syn. Årsaker til skade av stamcellene kan være kjemiske- eller etseskader, Stephen Johnsons syndrom, kontaktlinsebruk, stråleskader, gjentatt kirurgi, uttalt infeksjon og andre overflatesykdommer i øyet [52].

Stamcellesvikt kan være partiell eller total [54]. Ved partiell stamcelledefekt er stamcellene defekte i en liten del av limbus, men intakte og velfungerende ellers. Dermed vil man få innvekst av conjunctivalt epitel og kar i en sektor av hornhinnen, imens den øvrige delen forblir klar og transparent. Ved total stamcelledefekt er hele stamcellepopulasjonen ødelagt, og følgelig får man en conjunctivalisering av hele kornea.

Vanlig hornhinnetransplantasjon vil ikke kunne hjelpe denne pasientgruppen, da transplantatet som innopereres ikke inneholder den delen av hornhinnen der stamcellene befinner seg [55]. Hornhinnetransplantasjon er nødvendig for å erstatte et skadet hornhinnestroma, men reepitelialisering av den nye hornhinnen kan kun finne sted dersom det fremdeles eksisterer fungerende autologe stamceller hos mottakeren [56]. En total stamcellemangel kan kun behandles ved å transplantere stamceller [52]. Ved ensidig stamcellemangel kan man transplantere limbalt vev fra pasientens friske øye. Ved bilateral lidelse må man benytte limbale stamceller fra donor, enten levende slektning eller vev fra en nylig avdød.

En ny metode går ut på å dyrke limbale stamceller i cellekultur. Man høster limbale stamceller ved å ta en liten biopsi, ca 1-2 mm<sup>2</sup>, av limbusområdet i pasientens friske øye, eventuelt fra en slektning av pasienten eller en avdød i tilfeller av bilateral stamcellesvikt. Stamcellene dyrkes slik at man får et transplantat bestående av umodne epitelceller. Disse transplanteres deretter over på hornhinnen etter at conjunctivalt epitel er fjernet [5]. Dette ble først beskrevet av Pellegrini og medarbeidere i 1997 [56].

Fordelen ved å dyrke vev er at det trengs en langt mindre biopsi med følgende mindre risiko for skade på donorøyet. Dessuten overføres ikke antigenpresenterende Langerhanske celler ved dyrkning av limbale epitelceller. En potensiell risiko ved dyrkning av stamceller er bruken av serum fra kalvefostre og andre dyreprodukter i dyrkningsmediene. Dette gir mulighet for overføring av blant annet prioner. For å redusere denne risikoen har flere forskere med hell forsøkt å erstatte dyreserumet med serum fra mottaker. Fremdeles foreligger et behov for å utvikle et dyrkningssystem som er fullstendig fritt for produkter fra dyr [52].

Det foreligger et klart behov for økt kunnskap om hvilke faktorer som kontrollerer og påvirker stamcellene. Dette ville kunne brukes til forbedring av de eksisterende metoder for dyrkning og lagring [52]. Man har også liten kunnskap om den eksakte virkningsmekanismen ved transplantasjon av ex vivo dyrkede limbale stamceller. Et stort fremskritt i dette arbeidet ville være å finne en markør hos de limbale stamcellene som kunne gjøre det mulig å spore cellene etter transplantasjon. En slik markør finnes foreløpig ikke. En av teoriene er at man tilfører en ny populasjon av stamceller som integreres i mottakerens hornhinne og at disse virker ved kontinuerlig å erstatte hornhinneepitelet [54]. Daya og medarbeidere benyttet PCR genotyping for å finne ut om allogent donor DNA var til stede etter transplantasjonen. Etter 7-9 mnd hadde cellene mottakers genotype hos majoriteten av pasientene, noe som tilsier at donorcellene erstattes av vertens celler. Hvis dette er tilfelle, kan behandlingseffekten skyldes at transplantatet fungerer som en biologisk bandasje, og tillater regenerasjon av vertens egen stamcellepopulasjon [57]. I tilfeller av total stamcellesvikt har man teorier om at behandlingen initierer rekruttering av stamceller fra benmargen. Dette understøttes av at man under normale omstendigheter kan finne celler derivert fra stamceller i benmargen i sklera [58].

Tilgjengeligheten på dyrket vev er foreløpig svært begrenset. En av årsakene er den generelle mangelen på donorvev. Dyrkning er i tillegg en svært kostbar og krevende prosess og utføres derfor ikke ved enhver øyeavdeling. Dyrkningsprosessen er dessuten langvarig, det trengs

flere uker for å generere et flerlaget epitel. Dette gjør det vanskelig å planlegge operasjoner [59].

Inntil nylig har man ikke kjent til noen metode for lagring og transport av dyrket epitel. Utheim et al har vist at dyrkede limbale epitelceller kan lagres i organkulturmedium ved 23°C i opp til en uke før transplantasjon [59]. Ræder og medarbeidere har siden vist at lagring i organkultur ved 23 °C bevarer vevet bedre enn tilsvarende lagring i organkultur ved 31 °C og ved Optisol-GS ved 5 °C [60]. Nylig er det også blitt vist at lagring av dyrket vev gir tilfredsstillende resultater også etter to uker [61].

Lagring av dyrket vev muliggjør transport til inn- og utland. Dette vil kunne øke tilgangen på dette vevet betraktelig, slik at flere kan behandles. Mulighet for lagring vil også gi større fleksibilitet med hensyn på operasjonstidspunkt. Det kan bli hensiktsmessig å sentralisere produksjonen av dyrket vev, og slik spare ressurser og øke kvaliteten på vevet pga kompetanseoppbygging. Da bruk av inkubator under hele dyrkningsperioden gjør sterilitetskontroll før transplantasjon umulig, vil en lagringsperiode også gjøre det mulig å kontrollere om kontaminering har funnet sted [61].



## ***Hornhinnetransplantasjon og blindhet i verden***

I følge beregninger utført av WHO finnes det totalt om lag 50 millioner blinde i verden. 80 % av disse bor i utviklingsland [62]. Globale data viser at de tre viktigste årsakene til blindhet i verden er katarakt, trakom og glaukom [63]. Årsakene til blindhet viser forskjeller fra land til land avhengig av landets økonomiske utvikling. I land med høyt utviklet økonomi dominerer katarakt, glaukom og netthinnesykdom. I fattige land dominerer katarakt, hornhinnesykdom og glaukom [64].

Av alle dem som har mistet synet er ca 1,4 millioner barn [65]. Også her varierer prevalensen sterkt med sosioøkonomisk status [66]. 20 % av barna er blinde på grunn av sykdom eller skade på hornhinnen [67]. Blindhet hos barn må tas svært alvorlig, da synstap vil påvirke alle aspekter av barnets utvikling. Mortaliteten hos blinde barn er høyere enn hos tilsvarende barn med adekvat syn, særlig i utviklingsland [68].

Hornhinnesykdom er altså den hyppigste årsaken til blindhet i verden nest etter katarakt, på grunn av den høye forekomsten i fattige land. Her kan de fleste årsakene enten forbygges eller forhindres ved tidlig behandling. Fremdeles er trakom den hyppigste infeksiose årsaken til øyesykdom og blindhet. Andre viktige årsaker er onkocerkose, lepra, neonatal oftalmi og xeroftalmi [69]. De hyppigst forekommende indikasjonene for hornhinnetransplantasjon er arrdannelser og aktiv keratitt. I velstående land derimot dominerer keratokonus, bulløs keratopati, transplantatsvikt og hornhinnedystrofier [70].

Preoperativ diagnose påvirker i høy grad prognosen for transplantatoverlevelsen. Alle studier som er utført for å belyse transplantatoverlevelse viser at vaskularisering og aktiv inflammasjon hos mottaker på tidspunkt for kirurgi øker risiko for dårlig resultat. Dette er en av årsakene til at hornhinnetransplantasjon generelt har en mye dårligere prognose i fattige land. Lav sosioøkonomisk status og alder lavere enn 10 år bidrar også til dårlig prognose.

Disse forholdene indikerer at hornhinnetransplantasjon vil ha liten effekt på den totale forekomsten av korneal blindhet i verden. Behandlingen er i tillegg svært kostbar og ressurskrevende. Det forutsettes blant annet et godt utviklet hornhinnebanksystem, tilgang på donorvev, velutstyrte klinikker, kompetente hornhinnekirurger, tilgang på kostbare medikamenter som kortikosteroider og andre immunosuppressiva og regelmessig postoperativ oppfølging. Dette utgjør sterkt begrensende faktorer der forekomsten av hornhinnesykdom er høyest, nemlig i utviklingslandene. De fleste tilfellene av korneal blindhet i disse områdene kan forhindres med forebyggende tiltak og tidlig behandling av årsaker. Dette vil dermed være den mest effektive måten å redusere forekomsten av korneal blindhet. Men inntil slike tiltak iverksettes og gir effekt vil hornhinnetransplantasjon være den eneste løsningen hos de som har mistet synet permanent på grunn av hornhinnesykdom [70].

### ***Vevstilgang og fremtiden***

I dag henvises stadig flere pasienter til hornhinnetransplantasjon. Operasjonen i seg selv er lite ressurskrevende, og generelt har sykehusene kapasitet til å fjerne køene. Mangelen på donorvev begrenser antallet transplantasjoner. Dermed øker antall pasienter som står på venteliste, en gruppe som har sin livskvalitet betraktelig redusert på grunn av svekket syn. I Norge innhentes donorvev kun fra avdøde som obduseres. Her og i mange andre land skyldes vanskelighetene med å skaffe nok donormateriale blant annet strengere regulering for innhenting av vev, høye krav til laboratoriefasiliteter, synkende obduksjonstall og uklarheter rundt samtykke [55].

I følge May Griffith og medarbeidere er det forventet at på lang sikt vil syntetiske hornhinner spille en stor rolle i behandling av hornhinnesykdom. Det arbeides i dag med å konstruere syntetiske hornhinner som ligner det opprinnelige vevet og som vil fungere som en naturlig del av kroppen [71]. Dette vil kunne eliminere den store mangelen på hornhinnevev, og vil også kunne gi nytt håp til pasienter der hornhinnetransplantasjon har en lav suksessrate på grunn av immunologiske forhold, karinnvekst og gjentatte mislykkede transplantasjoner. Syntetiske hornhinner kan dermed også bidra til å redusere den høye forekomsten av korneal blindhet i utviklingsland.

## ***Litteratur***

- [1] Stocker FW. The endothelium of the cornea and its clinical implications. Transactions of the American Ophthalmological Society. 1953;51:669-786.
- [2] Moffatt SL, Cartwright VA, Stumpf TH. Centennial review of corneal transplantation. Clinical & experimental ophthalmology. 2005 Dec;33(6):642-57.
- [3] Hovding G. [Corneal transplantation]. Tidsskr Nor Laegeforen. 1999 Nov 20;119(28):4209-12.
- [4] Wilson SE, Bourne WM. Corneal preservation. Survey of ophthalmology. 1989 Jan-Feb;33(4):237-59.
- [5] Jeng BH. Preserving the cornea: corneal storage media. Current opinion in ophthalmology. 2006 Aug;17(4):332-7.
- [6] Basu PK. A review of methods for storage of corneas for keratoplasty. Indian journal of ophthalmology. 1995 Jun;43(2):55-8.
- [7] Bito LZ, Salvador EV. Intraocular fluid dynamics. II. Postmortem changes in solute concentrations. Experimental eye research. 1970 Oct;10(2):273-87.
- [8] Capella JA, Kaufman HE, Robbins JE. Preservation of viable corneal tissue. Archives of ophthalmology. 1965 Nov;74(5):669-73.
- [9] McCarey BE, Kaufman HE. Improved corneal storage. Investigative ophthalmology. 1974 Mar;13(3):165-73.
- [10] Ehlers N. Corneal banking and grafting: the background to the Danish Eye Bank System, where corneas await their patients. Acta ophthalmologica Scandinavica. 2002 Dec;80(6):572-8.
- [11] Lindstrom RL, Kaufman HE, Skelnik DL, Laing RA, Lass JH, Musch DC, et al. Optisol corneal storage medium. American journal of ophthalmology. 1992 Sep 15;114(3):345-56.
- [12] Smith TM, Popplewell J, Nakamura T, Trousdale MD. Efficacy and safety of gentamicin and streptomycin in Optisol-GS, a preservation medium for donor corneas. Cornea. 1995 Jan;14(1):49-55.
- [13] Stocker FW, Eiring A, Georgiade R, Georgiade N. Evaluation of viability of donor tissue for corneal grafting. Transactions of the American Ophthalmological Society. 1958;56:217-35; discussion 35-8.
- [14] Doughman DJ, Harris JE, Schmitt MK. Penetrating keratoplasty using 37 C organ cultured cornea. Transactions Section on Ophthalmology. 1976 Sep-Oct;81(5):778-93.
- [15] Sperling S. Human corneal endothelium in organ culture. The influence of temperature and medium of incubation. Acta ophthalmologica. 1979 Apr;57(2):269-76.
- [16] Pels E, Beele H, Claerhout I. Eye bank issues: II. Preservation techniques: warm versus cold storage. International ophthalmology. 2008 Jun;28(3):155-63.
- [17] Frueh BE, Bohnke M. Corneal grafting of donor tissue preserved for longer than 4 weeks in organ-culture medium. Cornea. 1995 Sep;14(5):463-6.
- [18] Redbrake C, Salla S, Frantz A. Changes in human donor corneas preserved for longer than 4 weeks. Cornea. 1998 Jan;17(1):62-5.

- [19] Thuret G, Chiquet C, Bernal F, Acquart S, Romanet JP, Mouillon M, et al. Prospective, randomized clinical and endothelial evaluation of 2 storage times for cornea donor tissue in organ culture at 31 degrees C. *Archives of ophthalmology*. 2003 Apr;121(4):442-50.
- [20] Frueh BE, Bohnke M. Prospective, randomized clinical evaluation of Optisol vs organ culture corneal storage media. *Archives of ophthalmology*. 2000 Jun;118(6):757-60.
- [21] Harper CL, Boulton ME, Marcyniuk B, Tullo AB, Ridgway AE. Endothelial viability of organ-cultured corneas following penetrating keratoplasty. *Eye (London, England)*. 1998;12 ( Pt 5):834-8.
- [22] Greenbaum A, Hasany SM, Rootman D. Optisol vs Dextsol as storage media for preservation of human corneal epithelium. *Eye (London, England)*. 2004 May;18(5):519-24.
- [23] Kim T, Palay DA, Lynn M. Donor factors associated with epithelial defects after penetrating keratoplasty. *Cornea*. 1996 Sep;15(5):451-6.
- [24] Wagoner MD, Gonnah el S. Corneal graft survival after prolonged storage in Optisol-GS. *Cornea*. 2005 Nov;24(8):976-9.
- [25] Van Meter WS, Katz DG, White H, Gayheart R. Effect of death-to-preservation time on donor corneal epithelium. *Transactions of the American Ophthalmological Society*. 2005;103:209-22; discussion 22-4.
- [26] Slettedal JK, Lyberg T, Ramstad H, Beraki K, Nicolaissen B. Regeneration of the epithelium in organ-cultured donor corneas with extended post-mortem time. *Acta ophthalmologica Scandinavica*. 2007 Jun;85(4):371-6.
- [27] Borderie VM, Touzeau O, Bourcier T, Allouch C, Laroche L. Graft reepithelialization after penetrating keratoplasty using organ-cultured donor tissue. *Ophthalmology*. 2006 Dec;113(12):2181-6.
- [28] Ehlers N, Hjortdal J, Moller-Pedersen T. Corneal storage and complications related to grafting. *Current opinion in ophthalmology*. 1994 Aug;5(4):75-80.
- [29] Ehlers N. Graft thickness after penetrating keratoplasty. *Acta ophthalmologica*. 1974;52(6):893-903.
- [30] Ehlers N, Olsen T. Long term results of corneal grafting in keratoconus. *Acta ophthalmologica*. 1983 Oct;61(5):918-26.
- [31] Geerards AJ, Kok JH. Extreme temporary thinning after keratoplasty of organ-cultured corneas. *Cornea*. 1993 Jul;12(4):277-81.
- [32] Slack JW, Kangas TA, Edelhauser HF, Geroski DH, McDermott ML. Comparison of corneal preservation media for corneal hydration and stromal proteoglycan loss. *Cornea*. 1992 May;11(3):204-10.
- [33] Moller-Pedersen T, Ledet T, Ehlers N. The keratocyte density of human donor corneas. *Current eye research*. 1994 Feb;13(2):163-9.
- [34] Rijneveld WJ, Remeijer L, van Rij G, Beekhuis H, Pels E. Prospective clinical evaluation of McCarey-Kaufman and organ culture cornea preservation media: 14-year follow-up. *Cornea*. 2008 Oct;27(9):996-1000.
- [35] Doughman DJ, Van Horn D, Rodman WP, Byrnes P, Lindstrom RL. Human corneal endothelial layer repair during organ culture. *Archives of ophthalmology*. 1976 Oct;94(10):1791-6.
- [36] Camposampiero D, Tiso R, Zanetti E, Ruzza A, Bruni A, Ponzin D. Improvement of human corneal endothelium in culture after prolonged hypothermic storage. *European journal of ophthalmology*. 2003 Nov-Dec;13(9-10):745-51.
- [37] Slettedal JK, Lyberg T, Roger M, Beraki K, Ramstad H, Nicolaissen B. Regeneration with proliferation of the endothelium of cultured human donor corneas with extended postmortem time. *Cornea*. 2008 Feb;27(2):212-9.

- [38] Builles N, Kodjikian L, Burillon C, Damour O. Major endothelial loss from corneas in organ culture: importance of second endothelial count. *Cornea*. 2006 Aug;25(7):815-20.
- [39] Pels L. Organ culture: the method of choice for preservation of human donor corneas. *The British journal of ophthalmology*. 1997 Jul;81(7):523-5.
- [40] Cleator GM, Klapper PE, Dennett C, Sullivan AL, Bonshek RE, Marcyniuk B, et al. Corneal donor infection by herpes simplex virus: herpes simplex virus DNA in donor corneas. *Cornea*. 1994 Jul;13(4):294-304.
- [41] Sengler U, Spelsberg H, Reinhard T, Sundmacher R, Adams O, Auw-Haedrich C, et al. Herpes simplex virus (HSV-1) infection in a donor cornea. *The British journal of ophthalmology*. 1999 Dec;83(12):1405.
- [42] Pels E, Schuchard Y. The effects of high molecular weight dextran on the preservation of human corneas. *Cornea*. 1984;3(3):219-27.
- [43] Borderie VM, Baudrimont M, Lopez M, Carvajal S, Laroche L. Evaluation of the deswelling period in dextran-containing medium after corneal organ culture. *Cornea*. 1997 Mar;16(2):215-23.
- [44] Sperling S, Sorensen IG. Decontamination of cadaver corneas. *Acta ophthalmologica*. 1981 Feb;59(1):126-33.
- [45] Kapur R, Tu EY, Pendland SL, Fiscella R, Sugar J. The effect of temperature on the antimicrobial activity of Optisol-GS. *Cornea*. 2006 Apr;25(3):319-24.
- [46] Stoiber J, Ruckhofer J, Lametschwandtner A, Muss W, Hitzl W, Weikinger K, et al. Eurosol versus fetal bovine serum-containing corneal storage medium. *Cornea*. 2001 Mar;20(2):205-9.
- [47] Moller-Pedersen T, Hartmann U, Moller HJ, Ehlers N, Engelmann K. Evaluation of potential organ culture media for eye banking using human donor corneas. *The British journal of ophthalmology*. 2001 Sep;85(9):1075-9.
- [48] The collaborative corneal transplantation studies (CCTS). Effectiveness of histocompatibility matching in high-risk corneal transplantation. The Collaborative Corneal Transplantation Studies Research Group. *Archives of ophthalmology*. 1992 Oct;110(10):1392-403.
- [49] Reinhard T, Bohringer D, Enczmann J, Kogler G, Mayweg S, Wernet P, et al. Improvement of graft prognosis in penetrating normal-risk keratoplasty by HLA class I and II matching. *Eye (London, England)*. 2004 Mar;18(3):269-77.
- [50] Ardjomand N, Berghold A, Reich ME. Loss of corneal Langerhans cells during storage in organ culture medium, Optisol and McCarey-Kaufman medium. *Eye (London, England)*. 1998;12 ( Pt 1):134-8.
- [51] Simon M, Fellner P, El-Shabrawi Y, Ardjomand N. Influence of donor storage time on corneal allograft survival. *Ophthalmology*. 2004 Aug;111(8):1534-8.
- [52] Shortt AJ, Secker GA, Notara MD, Limb GA, Khaw PT, Tuft SJ, et al. Transplantation of ex vivo cultured limbal epithelial stem cells: a review of techniques and clinical results. *Survey of ophthalmology*. 2007 Sep-Oct;52(5):483-502.
- [53] Davanger M, Evensen A. Role of the pericorneal papillary structure in renewal of corneal epithelium. *Nature*. 1971 Feb 19;229(5286):560-1.
- [54] Dua HS, Azuara-Blanco A. Limbal stem cells of the corneal epithelium. *Survey of ophthalmology*. 2000 Mar-Apr;44(5):415-25.
- [55] Slettedal JK, Drolsum L, Ramstad H, Nicolaissen B. [Eye banks and available transplants]. *Tidsskr Nor Laegeforen*. 2008 Apr 17;128(8):929-32.
- [56] Pellegrini G, Traverso CE, Franzi AT, Zingirian M, Cancedda R, De Luca M. Long-term restoration of damaged corneal surfaces with autologous cultivated corneal epithelium. *Lancet*. 1997 Apr 5;349(9057):990-3.

- [57] Daya SM, Watson A, Sharpe JR, Giledi O, Rowe A, Martin R, et al. Outcomes and DNA analysis of ex vivo expanded stem cell allograft for ocular surface reconstruction. *Ophthalmology*. 2005 Mar;112(3):470-7.
- [58] Nakamura T, Ishikawa F, Sonoda KH, Hisatomi T, Qiao H, Yamada J, et al. Characterization and distribution of bone marrow-derived cells in mouse cornea. *Investigative ophthalmology & visual science*. 2005 Feb;46(2):497-503.
- [59] Utheim TP, Raeder S, Utheim OA, Cai Y, Roald B, Drolsum L, et al. A novel method for preserving cultured limbal epithelial cells. *The British journal of ophthalmology*. 2007 Jun;91(6):797-800.
- [60] Raeder S, Utheim TP, Utheim OA, Nicolaissen B, Roald B, Cai Y, et al. Effects of organ culture and Optisol-GS storage on structural integrity, phenotypes, and apoptosis in cultured corneal epithelium. *Investigative ophthalmology & visual science*. 2007 Dec;48(12):5484-93.
- [61] Utheim TP, Raeder S, Utheim OA, de la Paz M, Roald B, Messelt E, et al. Sterility control and long-term eye bank storage of cultured human limbal epithelial cells for transplantation. *The British journal of ophthalmology*. 2009 Feb 11.
- [62] Foster A. Vision 2020--the Right to Sight. *Tropical doctor*. 2003 Oct;33(4):193-4.
- [63] Congdon NG, Friedman DS, Lietman T. Important causes of visual impairment in the world today. *Jama*. 2003 Oct 15;290(15):2057-60.
- [64] Thylefors B, Negrel AD, Pararajasegaram R, Dadzie KY. Global data on blindness. *Bulletin of the World Health Organization*. 1995;73(1):115-21.
- [65] Gilbert C, Foster A. Childhood blindness in the context of VISION 2020--the right to sight. *Bulletin of the World Health Organization*. 2001;79(3):227-32.
- [66] Gilbert CE, Anderton L, Dandona L, Foster A. Prevalence of visual impairment in children: a review of available data. *Ophthalmic epidemiology*. 1999 Mar;6(1):73-82.
- [67] Gilbert C, Foster A. Blindness in children: control priorities and research opportunities. *The British journal of ophthalmology*. 2001 Sep;85(9):1025-7.
- [68] Muhit M, Gilbert C. A review of the epidemiology and control of childhood blindness. *Tropical doctor*. 2003 Oct;33(4):197-201.
- [69] Whitcher JP, Srinivasan M, Upadhyay MP. Corneal blindness: a global perspective. *Bulletin of the World Health Organization*. 2001;79(3):214-21.
- [70] Garg P, Krishna PV, Stratis AK, Gopinathan U. The value of corneal transplantation in reducing blindness. *Eye (London, England)*. 2005 Oct;19(10):1106-14.
- [71] Griffith M, Hakim M, Shimmura S, Watsky MA, Li F, Carlsson D, et al. Artificial human corneas: scaffolds for transplantation and host regeneration. *Cornea*. 2002 Oct;21(7 Suppl):S54-61.